

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

02P 18150



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ Übersetzung der
europäischen Patentschrift

⑨7 EP 0 674 506 B 1

⑩ DE 693 29 295 T 2

⑤1 Int. Cl. 7:
A 61 K 9/16
A 61 K 38/00

②1 Deutsches Aktenzeichen: 693 29 295.4
 ②6 PCT-Aktenzeichen: PCT/US93/11621
 ⑨6 Europäisches Aktenzeichen: 94 902 475.6
 ②7 PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 94/12158
 ②6 PCT-Anmeldetag: 2. 12. 1993
 ②7 Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: 9. 6. 1994
 ⑨7 Erstveröffentlichung durch das EPA: 4. 10. 1995
 ⑨7 Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: 23. 8. 2000
 ④7 Veröffentlichungstag im Patentblatt: 15. 3. 2001

③0 Unionspriorität:

984323 02. 12. 1992 US

⑦3 Patentinhaber:

Alkermes Controlled Therapeutics, Inc.,
Cambridge, Mass., US

⑦4 Vertreter:

Müller, Schupfner & Gauger, 21244 Buchholz

⑧4 Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC,
NL, PT, SE

⑦2 Erfinder:

AUER, Henry, Watertown, US; KHAN, M. Amin,
Burlington, US; BERNSTEIN, Howard, Cambridge,
US

⑤4 WACHSTUMHORMON ENTHALTENDE MIKROSPHAEREN MIT KONTROLLIERTER FREISETZUNG

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

DE 693 29 295 T 2

DE 693 29 295 T 2

5

Grundlagen der Erfindung

Diese Erfindung bezieht sich allgemein auf Polymermikrosphären zur kontrollierten Freisetzung von Wachstumshormon.

10

Menschliches Wachstumshormon (hGH) ist ein von der Hirnanhangdrüse sezerniertes Protein. Das Protein enthält 191 Aminosäuren und besitzt ein Molekulargewicht von 22.000. hGH bewirkt Wachstum sämtlicher Körpergewebe, die hierzu fähig sind. Zusätzlich zu seiner allgemeinen Wirkung der Auslösung von Wachstum ist das Hormon an den folgenden Stoffwechseleffekten beteiligt: 1) erhöhte zelluläre Proteinsynthese, 2) verminderte Glucose-Verwertung und 3) erhöhte Mobilisierung von Fettsäuren aus Fettgewebe. hGH wird zur Behandlung von hypopituitärem Zwergenwuchs eingesetzt und wird dreimal pro Woche über den subkutanen oder intramuskulären Pfad verabreicht.

20

Die Verabreichung von Wachstumshormon erfordert im Allgemeinen häufige intramuskuläre (IM) oder subkutane (SQ) Injektionen. Die Vorteile einer Formulierung zur kontrollierten Freisetzung von Wachstumshormon umfassen eine erhöhte Patientenbereitschaft und -akzeptanz durch die verminderte Anzahl an Injektionen, einen erhöhten therapeutischen Vorteil

durch Verhinderung von Maxima und Minima der Blutspiegel und eine potenzielle Verringerung der gesamten verabreichten Menge an Arzneimittel durch eine Reduzierung von Maxima und Minima.

Ein Mittel zur Kontrolle von Blutspiegeln einer Verbindung ist, sie in Form einer polymeren Matrix zu verabreichen, die die Verbindung als eine Funktion des Abbaus der Matrix und/oder Arzneimittel-Diffusion freisetzt. Eine Reihe von bioabbaubaren und nicht bioabbaubaren Polymeren sind für solche Anwendungen verwendet worden, einschließlich Polyester wie beispielsweise Poly(lactid-co-glycolid)e, Polyanhydride, Polyorthoester und Ethylenvinylacetat-Polymere. Im Allgemeinen ist eine Freisetzung durch Auswahl des geeigneten Polymers, Einkapselungsbedingungen und Arzneimittelbeladung und Arzneimittelträger kontrolliert.

Beispiele dieser Polymersysteme sind in den U.S. Patenten, Nr. 4.891.225 von Langer und 4.906.474 von Langer (Polyanhydride), 4.391.797 von Folkman, et al. (Ethylenvinylacetat-Polymere), 4.767.628 von Hutchinson (Polylactid, Polylactid-co-glycolidsäure) und 4.530.840 von Tice et al. (Polylactid, Polyglycolid und Copolymere) beschrieben. In EP-A-0330180 sind Mikrosphären offengelegt, die Wachstumshormone und gebräuchliche pharmazeutisch verträgliche Arzneimittelträger umfassen können.

Allerdings ist eine kontrollierte Freisetzung mit der gewünschten Rate und über den gewünschten Zeitraum schwierig zu erreichen. Außerdem dürfen weder die eingesetzten Bedingungen zur Einkapselung des Arzneimittels zu einem Abbau des zu überbringenden Arzneimittels führen, noch darf das Arzneimittel mit der polymeren Matrix reagieren, um nicht das

Arzneimittel zu inaktivieren oder zu binden. Es ist ebenso wichtig, dass unter klinischen Umständen das Überbringungsmittel mit effektiven Kosten herstellbar, stabil zu lagern und mit Hilfe von Standardverfahren zu verabreichen sein muss.

- 5 Es ist deshalb ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Herstellung von Mikrosphären, die Wachstumshormon enthalten, mit einem sehr geringen Verlust an Aktivität oder Material, insbesondere menschlichem Wachstumshormon, bereitzustellen.

- 10 Es ist ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Herstellung von Mikrosphären, die mit einem breiten Spektrum an Polymeren gebildet sind und aktives, in kontrollierter Weise freisetzbare Wachstumshormon enthalten, und die in einem derartigen Verfahren hergestellten Mikrosphären bereitzustellen.

15 Zusammenfassung der Erfindung

- Es sind polymere kontrollierte Freisetzungssysteme für Wachstumshormon beschrieben, worin das Wachstumshormon seine biologische Aktivität gut beibehält und über einen längeren Zeitraum im Anschluss an die Verabreichung freigesetzt wird. In der bevorzugten Anwendung werden die
- 20 Wachstumshormon Polymermikrosphären unter Einsatz sehr niedriger Temperaturen hergestellt, um die Polymer-Wachstumshormon Mischungen in Polymermikrosphären zu gefrieren und die biologischen Aktivität und das Material zu erhalten. Polymer, vorzugsweise ein Poly(lactid), wird in einem Lösemittel beispielsweise Methylenchlorid gemeinsam mit einem

pulverisierten Wachstumshormon gelöst. Die Polymer/Wachstumshormon Mischung wird in ein Gefäß zerstäubt, das ein gefrorenes Nicht-Lösemittel wie beispielsweise Ethanol enthält, überlagert mit einem Flüssiggas wie beispielsweise Stickstoff, bei einer Temperatur unterhalb des Gefrierpunktes der Polymer/aktives Agens Lösung oder Suspension. Die zerstäubten Partikel gefrieren in Mikrosphären bei Kontakt mit dem kalten Flüssiggas, sinken dann auf die gefrorene Schicht des Nicht-Lösemittels. Das gefrorene Nicht-Lösemittel wird dann aufgetaut. Wenn das Nicht-Lösemittel auftaut, sind die Mikrosphären noch gefroren und sinken in das Nicht-Lösemittel ein. Das Lösemittel in den Mikrosphären taut ebenfalls und wird langsam in das Nicht-Lösemittel extrahiert, was zu festen, das Wachstumshormon enthaltenden Mikrosphären führt.

Beispiele mit Wachstumshormon zeigen eine Langzeit-Freisetzung von biologisch aktivem Wachstumshormon, wenn die Mikrosphären *in vitro* oder *in vivo* getestet werden, die sich über einen Zeitraum von einem Tag bis zu drei Monaten erstreckt. Eine veränderte Freisetzung kann durch Einbeziehen eines Polymerabbau-Modifizierungsmittel, Poren-bildenden Mitteln und Wachstumshormon-Stabilisatoren erreicht werden.

20

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

Abbildung 1 ist ein Graph, der die durchschnittlichen Änderung des Gewichts in 14 Tagen von Ratten zeigt, denen täglich 80 µg Wachstumshormon (schwarze Kreise), täglich 20 µg Wachstumshormon (weiße

Quadrate), und aus Mikrosphären freigesetztes Wachstumshormon (schwarze Quadrate) über die Zeit (Tage) verabreicht wurde.

Genaue Beschreibung der Erfindung

- 5 Die Erfindung ist in den Ansprüchen definiert. Wachstumshormon enthaltende Mikrosphären sind durch Einbau von Wachstumshormon in eine biokompatible Polymermikrosphäre mit bis zu ungefähr 50% w/w hergestellt, worin die das Wachstumshormon enthaltende Mikrosphäre durch eine kontrollierte Langzeit-Freisetzung des Wachstumshormons über einen
- 10 Zeitraum von mindestens 24 Stunden bis zu einem Zeitraum von einem bis drei Monaten gekennzeichnet ist. In der bevorzugten Anwendung ist das Polymer biologisch abbaubar, am bevorzugtesten durch Hydrolyse, und die Mikrosphären besitzen einen Durchmesser von weniger als 180 μm (Mikron), am bevorzugtesten weniger als 70 μm (Mikron), und sind für eine
- 15 Verabreichung durch subkutane oder intramuskuläre Injektion geeignet (eine geeignete Größe für eine Injektion mit einer 23-er Nadel wäre kleiner als 180 μm im Durchmesser) und die Mikrosphären enthalten von 0,01 Gew.-% bis zu ungefähr 50 Gew.-% menschliches Wachstumshormon.

- Wie hier verwendet, bedeutet „Mikrosphäre“ feste Sphären, die aus
- 20 einem Polymer mit darin dispergiertem Wachstumshormon gebildet sind, ebenso wie Mikropartikel und Mikrokapseln, soweit es nicht anders vermerkt ist.

Mikropartikel beziehen sich spezifisch auf irregulär geformt beschriebene Polymer oder Polymer-Arzneimittel Partikel. Mikrokapseln sind

sphärisch geformte Polymer-Vorrichtungen mit einem nicht-polymeren Kern oder einem Kern aus einem anderen Polymer wie die äußere Hülle.

Wie hier verwendet, kann „Langzeit“ oder „verlängertes“ Freisetzen des Wachstumshormons kontinuierlich oder diskontinuierlich, linear oder nichtlinear erfolgen. Dies kann erreicht werden durch Verwendung einer oder mehrerer Arten von Polymer-Zusammensetzungen, Arzneimittel-Beladungen, Auswahl der Arzneimittelträger oder Abbau-Beschleuniger oder anderer Modifikationen, die allein, in Kombination oder sequenziell vorgenommen werden, um den gewünschten Effekt zu erzielen.

10 Wachstumshormon ist in Form eines lyophilisierten Pulvers, das physiologische Puffer und Salze enthält, erhältlich.

Verfahren zum Einbau von Wachstumshormon in Mikrosphären.

Eine Reihe von Techniken sind bekannt, mit denen aktive Agenzien in Polymermikrosphären eingebaut werden können.

Sprühtrocknen

Beim Sprühtrocknen werden das Polymer und Wachstumshormon in einem Lösemittel für das Polymer gemeinsam gemischt, dann wird das Lösemittel durch Versprühen der Lösung verdampft, wobei Polymertröpfchen übrig bleiben, die das aktive Agens enthalten. Ein genauer Überblick über Sprühtrocknen ist von K. Masters in „Spray Drying Handbook“ (John Wiley & Sons, New York 1984); und Patrick B. Deasy in „Microencapsulation and related Drug Processes“ (Marcel Dekker, Inc., New York 1984) zu erhalten. Sprühtrocknen ist nicht bevorzugt, da es zu einigen Verlusten an Aktivität auf

Grund der in dem Verfahren entwickelten Wärme wie auch zu einem Verlust an beträchtlichen Mengen an Material auf Grund des Anhaftens des Polymers an der großen Oberfläche der Kammerflächen führen kann.

Lösemittelverdampfung

5 Techniken zum Lösemittelverdampfen können zur Bildung von Mikrosphären angewandt werden. Diese Techniken umfassen Lösen des Polymers in einem organischen Lösemittel, das entweder gelöstes oder dispergiertes aktives Agens enthält. Die Polymer/aktives Agens Lösung wird dann zu einer gerührten kontinuierlichen Phase, die normalerweise wässrig
10 ist, gegeben. Emulsionsmittel sind in der wässrigen Phase enthalten, um die Öl-in-Wasser Emulsion zu stabilisieren. Das organische Lösemittel wird dann in einem Zeitraum von einigen Stunden oder mehr verdampft und dabei lagert sich das Polymer um das Kernmaterial an. Das Lösemittel kann von den Mikrosphären in einem einzigen Schritt, wie in U.S. Patent, Nr. 3.737.337,
15 und U.S. Patent, Nr. 3.523.906, oder in U.S. Patent, Nr. 3.691.090, (unter vermindertem Druck) oder durch die Anwendung von Wärme, wie in U.S. Patent, Nr. 3.891.570, gezeigt, entfernt werden. Eine Zweischritt-Technik ist in U.S. Patent, Nr. 4.389.330, beschrieben. Gefriertrocknen ist ebenfalls angewandt worden, um das Lösemittel von Mikrosphären zu entfernen, wie
20 von Sato, et al. in „Porous Biodegradable Microspheres for Controlled Drug Delivery. I. Assessment of Processing Conditions and Solvent Removal Techniques,” Pharmaceutical Research 5, 21-30 (1988) berichtet.

Lösemittelverdampfung gelingt ziemlich gut, ist aber nicht bevorzugt, da die Menge an eingebautem Material normalerweise geringer als die

theoretischen Werte auf Grund des Verlusts an Arzneimittel an die wässrige Phase ist, wie es von Benita, et al., in „Characterization of Drug Loaded Poly(d,l-lactide) Microspheres,“ J. Pharm. Sci. 73, 1721-1724 (1984) berichtet wird.

5 Phasentrennung

Phasentrennungstechniken können ebenfalls zur Bildung von Mikrosphären angewandt werden. Diese Techniken umfassen die Bildung einer Wasser-in-Öl Emulsion oder Öl-in-Wasser Emulsion. Das Polymer wird aus der kontinuierlichen Phase auf das aktive Agens durch eine Änderung von Temperatur, pH, Ionenstärke oder Zugabe von Fällungsmitteln gefällt. Zum Beispiel beschreibt U.S. Patent, Nr. 4.675.800, et al. die Bildung von aktiven Proteine enthaltenden Poly(Milchsäure-co-glycolsäure) Mikrosphären. Das Protein wird zuerst in der wässrigen Phase einer Wasser-in-Öl Emulsion gelöst oder als Feststoff in der Polymerphase dispergiert. Das Polymer wird dann um die wässrigen Tröpfchen oder Arzneimittel-Partikel durch Zugabe eines Nicht-Lösemittels für das Polymer wie beispielsweise Silikonöl gefällt. Das Endprodukt liegt, wie mit den meisten Phasentrennungstechniken, in Form einer Mikrokapsel vor. Mikrokapseln enthalten ein Kernmaterial, das von einer Polymermembran-Kapsel umgeben ist. Mikrokapseln sind allerdings nicht die bevorzugte Anwendung für ein Überbringen von Wachstumshormon, da die Freisetzungskinetiken von aktiven Agenzien aus diesen Vorrichtungen schwierig zu kontrollieren sein können.

Obwohl diese Phasentrennungstechniken zu der Bildung von aktiven Agenzien enthaltenden Mikrosphären führen, wird das aktive Agens oft

während des Lösemittelextraktionsverfahrens verloren. Zusätzlich können, wie beim Sprühtrocknen, biologisch aktive Proteine während des Verfahrens denaturiert werden.

Schnellgefrieren, Lösemittelextraktion

- 5 Das bevorzugte Verfahren zur Herstellung von Wachstumshormon-Mikrosphären mit den gewünschten Merkmalen ist in U.S. Patent, Nr. 5.019.400, von Gombotz, et al. beschrieben.

- Es gibt zwei prinzipielle Anwendungen des Systems für die Herstellung von Mikrosphären: eine Kombination Flüssiggas – gefrorenes Nicht-Lösemittel System und ein gefrorenes Nicht-Lösemittel System.

- 10 Polymer und einzukapselndes Agens sind in Lösung und werden mit Hilfe eines Ultraschall-Geräts in ein Flüssiggas zerstäubt. Die zerstäubten Partikel gefrieren, wenn sie mit dem Flüssiggas (flüssigem Stickstoff) in Kontakt kommen und bilden gefrorene Sphären. Diese sinken auf die
- 15 Oberfläche des gefrorenen Nicht-Lösemittels (Ethanol). Das Flüssiggas wird verdampft und die Sphären beginnen in das Nicht-Lösemittel zu sinken, wenn das Nicht-Lösemittel taut. Das Lösemittel in den Sphären wird in das Nicht-Lösemittel extrahiert, um Mikrosphären zu bilden, die das einzukapselnde Agens enthalten. Weitere Nicht-Lösemittel wie beispielsweise Hexan werden
- 20 zu dem Nicht-Lösemittel (Ethanol) gegeben, um die Geschwindigkeit der Lösemittelextraktion aus bestimmten Polymeren zu erhöhen, wo geeignet, zum Beispiel wenn Sphären aus Polylactid-co-glycolid Polymeren gebildet sind.

Das Flüssiggas kann flüssiges Argon ($-185,6^{\circ}\text{C}$), flüssiger Stickstoff ($-195,8^{\circ}\text{C}$), flüssiger Sauerstoff ($-182,9^{\circ}\text{C}$) oder ein beliebiges anderes Gas sein, das zu einem sofortigen Gefrieren der zerstäubten Partikel in gefrorenen Sphären führt. Sauerstoff ist nicht bevorzugt, da er explosiv ist und eine

5 Oxidation des Proteins bewirken kann.

Alternativ kann ein kaltes Nicht-Lösemittel für das Polymer für die Kombination aus Flüssiggas – gefrorenes Nicht-Lösemittel eingesetzt sein, sofern die Temperatur des Nicht-Lösemittels unter dem Gefrierpunkt der Polymer/aktives Agens Lösung liegt.

10 In beiden Anwendungen ist es wichtig, dass das Polymer/aktives Agens sofort bei Kontakt mit der kalten Flüssigkeit gefriert und dann langsam aufgetaut und das Polymer-Lösemittel aus den Mikrosphären extrahiert wird.

Die Auftau-Geschwindigkeit hängt von der Wahl der Lösemittel und Nicht-Lösemittel ab. Es ist wichtig, ein Lösemittel für das Polymer mit einem

15 höheren Schmelzpunkt als dem des Nicht-Lösemittels für das Polymer zu wählen, so dass das Nicht-Lösemittel zuerst gefriert, was den gefrorenen Mikrosphären erlaubt, in die Flüssigkeit zu sinken, wo sie später auftauen.

Falls ein kaltes flüssiges Nicht-Lösemittel-System zur Herstellung der Mikrosphären verwendet wird, werden die Mikrosphären sofort in das Nicht-

20 Lösemittel sinken. Wenn das Lösemittel in den Mikrosphären taut, wird es in das Nicht-Lösemittel extrahiert. Das Lösemittel für das Polymer und das Nicht-Lösemittel für das Polymer müssen mischbar sein, um eine Extraktion des Lösemittels aus den Mikrosphären zu erlauben. Tabelle 1 zeigt einige

Polymer/Lösemittel/Nicht-Lösemittel Systeme, die in diesen Verfahren verwendet werden können, mit ihren Schmelzpunkten.

Tabelle 1: Polymere und geeignete Lösemittel und Nicht-Lösemittel Systeme sowie Lösemittel- und Nicht-Lösemittel-Schmelzpunkte in °C

	<u>Polymer</u>	<u>Lösemittel</u>	<u>Nicht-Lösemittel</u>
10	Poly(lactid)	Methylenchlorid (-95,1) Chloroform (-63,5)	Ethanol (-114,5) Methanol (-97,5)
15	Poly(lactid-co-glycolid säure)	Ethylacetat (-83,6) Aceton (-95,4) Methylenchlorid (-95,1)	Ethanol (-114,5) Ethylether (-116,5) Isopentan (-130)
	Poly(caprolacton)	Methylenchlorid (-95,1)	Ethanol (-114,5)
20	Poly(vinylalkohol)	Wasser (0)	Aceton (-95,4)
	Etylenvinylacetat	Methylenchlorid (-95,1)	Ethanol (-114,5)

Die Polymer/aktives Agens/Lösemittel Mischung kann in die kalte Flüssigkeit, entweder das Flüssiggas oder das kalte Nicht-Lösemittel, gesprüht werden unter Verwendung einer Reihe von Vorrichtungen, die zur Bildung von kleinen Partikeln verwendet werden können, einschließlich Ultraschalldüsen, Druckdüsen, Druckluftdüsen und Rotationszerstäuber.

Ein weiter Bereich von Mikrosphären-Größen können durch Variation der Tröpfchengröße, zum Beispiel durch Änderung des Düsendurchmessers, hergestellt werden. Falls sehr große Sphären gewünscht sind, können die Sphären durch eine Spritze direkt in die kalte Flüssigkeit gespritzt werden. Eine Erhöhung der logarithmischen Viskositätszahl der Polymerlösung kann

auch zu einer Vergrößerung Mikrosphärengroße führen. Die Größe der mit diesem Verfahren hergestellten Sphären kann im Bereich von größer als 1000 bis zu 5 μm (Mikron) im Durchmesser liegen. Ein bevorzugter Größenbereich für injizierbare Mikrosphären reicht von 30 bis 180 μm (Mikron) im Durchmesser. Die mit dieser Technik hergestellten Mikrosphären besitzen eine sphärische Form.

Auswahl der Polymermatrix

Polymere, die zur Bildung der Mikrosphären verwendet werden können, umfassen bioerodierbare Polymere wie beispielsweise Poly(lactid), Poly(lactid-co-glycolid), Poly(caprolacton), Polycarbonate, Polyamide, Polyanhydride, Polyaminosäuren, Polyorthoester, Polyacetale, Polycyanoacrylate und abbaubare Polyurethane und nicht-erodierbare Polymere wie beispielsweise Polyacrylate, Ethylenvinylacetat-Polymere und andere acyl-substituierte Celluloseacetate und Derivate davon, nicht-erodierbare Polyurethane, Polystyrole, Polyvinylchlorid, Polyvinylfluorid, Poly(vinylimidazol), chlorsulfonierte Polyolefine und Polyethylenoxid. Fast jeder beliebige Polymer-Typ kann verwendet werden, sofern das geeignete Lösemittel und Nicht-Lösemittel, die die gewünschten Schmelzpunkte besitzen, herausgefunden werden. Im Allgemeinen wird eine Polymerlösung hergestellt, die zwischen 1% Polymer und 30% Polymer, vorzugsweise 5-10% Polymer, enthält.

In der bevorzugten Anwendung wird ein Poly(lactid) verwendet. Wie hier verwendet, umfasst diese Bezeichnung Polymere der Milchsäure oder

ausschließlich Lactid, Copolymere der Milchsäure und Glycolsäure, Copolymere von Lactid und Glycolid, Mischungen derartiger Polymere und Copolymere, wobei die Milchsäure oder das Lactid entweder als Razemat oder in optisch reiner Form vorliegt. Es ist sehr wünschenswert, Polylactide zu verwenden, deren Molekulargewicht im Bereich bis zu 100.000 liegt.

Die Freisetzung von Wachstumshormon aus diesen Polymersystemen kann durch zwei verschiedene Mechanismen erfolgen. Das Arzneimittel kann mittels Diffusion durch Wasser-gefüllte Kanäle, die in der Dosierungsform durch das Auflösen des Arzneimittels entstehen oder durch Lücken freigesetzt werden, die durch das Entfernen des Polymer-Lösemittels während der ursprünglichen Mikroinkapselung geschaffen werden. Der zweite Mechanismus ist eine verstärkte Freisetzung auf Grund des Polymerabbaus. Mit der Zeit beginnt das Polymer zu erodieren und es bildet sich eine erhöhte Porosität und Mikrostruktur innerhalb der Vorrichtung aus. Dieses schafft zusätzliche Wege für eine Arzneimittel-Freisetzung.

Der Abbau der Polymere erfolgt durch spontane Hydrolyse der Esterbindungen am Rückgrat. Folglich kann die Geschwindigkeit durch Änderung von Polymereigenschaften, die die Wasseraufnahme beeinflussen, kontrolliert werden. Diese umfassen das Monomer-Verhältnis (Lactid zu Glycolid), die Verwendung von L-Lactid im Gegensatz zu D/L-Lactid und das Molekulargewicht. Diese Faktoren bestimmen die Hydrophilie und Kristallinität, die letzten Endes die Wassereintrittsgeschwindigkeit bestimmen. Hydrophile Arzneimittelträger, wie beispielsweise Salze, Kohlenhydrate und oberflächenaktive Stoffe können ebenfalls eingebaut sein, um den

Wassereintritt in die Vorrichtungen zu steigern und folglich die Erosion des Polymers beschleunigen.

Durch Änderung der Eigenschaften des Polymers und die Eigenschaften der Dosierungsform kann man den Beitrag eines jeden dieser Freisetzungsmechanismen kontrollieren und die Freisetzungsgeschwindigkeit vom Wachstumshormon verändern. Langsam erodierenden Polymere wie beispielsweise Poly-L-Lactid oder Poly(lactid-co-glycolid) mit hohem Molekulargewicht und mit geringem Glycolid-Anteilen lassen die Freisetzung diffusionskontrolliert werden. Eine Erhöhung des Glycolid-Anteils und eine Verringerung des Molekulargewichts verstärkt sowohl die Wasseraufnahme als auch die Hydrolyse des Polymers und fügt eine Erosionskomponente den Freisetzungskinetiken hinzu.

Die Freisetzungsrates kann ebenfalls durch Änderung der Beladung mit Wachstumshormon in die Mikrosphäre kontrolliert sein. Eine Erhöhung der Beladung vergrößert das Netz der miteinander verbundenen Kanäle, die beim Lösen des Arzneimittels gebildet werden und die Freisetzung des Arzneimittels aus den Mikrosphären steigern. Der bevorzugte Bereich der Beladungen mit Wachstumshormon liegt im Bereich von 3-30% (w/w).

Eine Polymerhydrolyse wird durch saure oder basische pH-Werte beschleunigt und folglich können auch saure oder basische Arzneimittelträger zum Modulieren der Polymererosionsrate verwendet werden. Die Arzneimittelträger können als Partikel zugefügt sein, können mit dem eingebauten Wachstumshormon gemischt sein oder können in dem Polymer gelöst sein.

Arzneimittelträger können ebenfalls zu dem Wachstumshormon gegeben sein, um dessen Wirksamkeit aufrechtzuerhalten, die von der Freisetzungsdauer abhängt. Stabilisatoren umfassen Kohlenhydrate, Aminosäuren, Fettsäuren und oberflächenaktive Stoffe und sind dem Fachmann bekannt. Zusätzlich können Arzneimittelträger, die die Löslichkeit des Wachstumshormons modifizieren, wie beispielsweise Salze, Komplexbildner (Albumin, Protamin) eingesetzt sein, um die Freisetzungsrates des Proteins aus den Mikrosphären zu kontrollieren.

10 **Additive zur Änderung der Freisetzungsrates, Abbaurates, Stabilität des Wachstumshormons**

Stabilisatoren für das Wachstumshormon sind im Verhältnis zum Protein auf Gewichtsbasis bezogen. Beispiele umfassen Kohlenhydrate, wie beispielsweise Sucrose, Lactose, Mannitol, Dextran, und Heparin, Proteine, wie beispielsweise Albumin und Protamin, Aminosäuren, wie beispielsweise Arginin, Glycin und Threonin, oberflächenaktive Stoffe, wie beispielsweise TweenTM und PluronicTM, Salze, wie beispielsweise Calciumchlorid und Natriumphosphat, und Lipide, wie beispielsweise Fettsäuren, Phospholipide, und Gallensäuresalze.

20 Die Verhältnisse liegen im Allgemeinen bei 1:10 bis 4:1 für Kohlenhydrat zu Protein, Aminosäuren zu Protein, Proteinstabilisator zu Protein und Salze zu Protein; 1:1000 bis 1:20 für oberflächenaktiver Stoff zu Protein; und 1:20 bis 4:1 für Lipid zu Protein.

Abbaubeschleuniger sind gewichtsmäßig auf das Polymergewicht bezogen. Sie können, in Abhängigkeit von der Verbindung, zu der Proteinphase gegeben werden, als eine separate Phase (d.h. als Partikel) gegeben werden oder können in der Polymerphase mitgelöst werden. In allen Fällen sollte die Menge zwischen 0,1 und 30% (w/w, Polymer) liegen. Arten von Abbaubeschleuniger umfassen anorganische Salze wie beispielsweise Ammoniumsulfat und Ammoniumchlorid, organische Säuren wie beispielsweise Citronensäure, Benzoesäuren, Heparin und Ascorbinsäure, anorganische Basen wie beispielsweise Natriumcarbonat, Kaliumcarbonat, Calciumcarbonat, Zinkcarbonat und Zinkhydroxid und organische Basen wie beispielsweise Protaminsulfat, Spermin, Cholin, Ethanolamin, Diethanolamin und Triethanolamin und oberflächenaktive Stoffe wie beispielsweise TweenTM und PluronicTM.

Poren-bildende Mittel zur zusätzlichen Ausbildung einer Mikrostruktur für die Matrices (d.h. wasserlösliche Verbindungen wie beispielsweise anorganische Salze und Zucker). Sie werden als Partikel zugegeben. Der Bereich sollte zwischen einem und dreißig Prozent (w/w, Polymer) liegen.

Verabreichung der Mikrosphären an einen Patienten

Eine wirksame Menge der Wachstumshormon enthaltenden Mikrosphären werden einem Patienten durch subkutane, intramuskuläre, intraperitoneale und intradermale Injektion verabreicht, durch Verabreichung über Schleimhäute (wie beispielsweise intranasal oder mittels Suppositorien) oder durch *in situ* Überbringen, um die gewünschte Dosierung an

Wachstumshormon bereitzustellen, die auf bekannten Parametern für die Behandlung mit Wachstumshormon der verschiedenen medizinischen Erkrankungen basieren.

Die vorliegende Erfindung wird durch die folgenden Beispiele näher
5 beschrieben.

Beispiel 1: Herstellung von Wachstumshormon enthaltenden Poly(L-Milchsäure) Mikrosphären

0,54 Poly-D/L-Lactid-co-glycolid 50:50 (logarithmische Viskositätszahl
10 0,16) (Birmingham Polymers, Birmingham AL) wurde in 3,2 ml
Methylenchlorid gelöst. Zu dieser Polymerlösung wurde 60 mg lyophilisiertes
Wachstumshormon, die Zinkionen in einem molaren Verhältnis von 4:1 und
Natriumbicarbonat (10 mg) enthielt, gegeben. Das lyophilisierte Protein besaß
eine Partikelgröße im Bereich von 2-5 µm (Mikron). Die Lösung wurde in eine
15 gasdichte 10 ml Spritze verbracht. 200 ml 100% Ethanol wurde in einen
runden Polypropylen-Behälter (17 cm Durchmesser, 8 cm tief) gegeben.
Diese Lösung wurde in flüssigem Stickstoff gefroren und mit 500 ml flüssigem
Stickstoff bedeckt. Die Polymer-Protein Mischung wurde aus der Spritze über
eine Spritzenpumpe mit 2 ml/min in eine Ultraschalldüse (Mode, Sonics and
20 Material, Danbury CT) gepumpt, die über dem Behälter mit flüssigem
Stickstoff und gefrorenem Ethanol angebracht war. Die Düse zerstäubte die
Suspension in Tröpfchen, die bei Kontakt mit dem flüssigen Stickstoff froren
und Mikrosphären bildeten, die dann auf das gefrorene Ethanol absanken.

Der Behälter wurde bei -80°C aufbewahrt, wo der flüssige Stickstoff verdampfte und das Ethanol mit der Zeit schmolz. Wenn das Ethanol auftaut, setzen sich die Mikrosphären in der Flüssigkeit ab, wo das Methylenchlorid extrahiert wird. Nach 24 Stunden wurden zusätzlich 200 ml 100% auf -80°C vorgekühltes Ethanol in den Behälter gegeben. Nach drei Tagen wurde die Suspension aus Mikrosphären und Ethanol unter Verwendung einer $1\text{ }\mu\text{m}$ (Mikron) Durapore Membran (Millipore, Bedford, MA) gefiltert. Die gefilterten Mikrosphären wurden dann lyophilisiert.

10 **Beispiel 2: *In vivo* Assay von Wachstumshormon, das aus Poly(D/L-Lactid-co-glycolid) Mikrosphären freigesetzt wird.**

Wie in Beispiel 1 hergestellte Mikrosphären wurden in einem Ratten-Bioassay, der in der British Pharmacopeia genau beschrieben ist, getestet. Ratten, deren Hypophyse entfernt war, wurden von Taconics, Germantown, New York, erhalten. Drei Tiergruppen wurden eingesetzt. Gruppe 1 und 2 erhielt eine einzige tägliche hGH Injektion von 20 beziehungsweise $80\text{ }\mu\text{g}$. Gruppe 3 erhielt 18 mg Mikrosphären, die subkutan in den Rücken injiziert wurden. Die Tiere wurden mit Standardnahrung gefüttert und durften jederzeit Wasser zu sich nehmen.

20 Die Körpergewichtszunahme ist in Abbildung 1 gezeigt. Die injizierbare Formulierung stellt eine Langzeit-Freisetzung eines wirksamen Hormons bereit und führt zu einer Körpergewichtszunahme.

27 10 00
-1-ANSPRÜCHE:

1. Eine Polymermikrosphäre mit einem Durchmesser von weniger als 1000 μm (Mikron), die aus einem biokompatiblen Polymer gebildet ist, das aus der Gruppe ausgewählt ist bestehend aus Poly(lactid), Poly(lactid-co-glycolid)en, Poly(caprolacton), Polycarbonaten, Polyamiden, Polyanhydriden, Polyaminosäuren, Polyorthoestern, Polyacetalen, Polycyanoacrylaten, abbaubaren Polyurethanen, Polyacrylaten, Ethylenvinylacetat-Polymeren und anderen acyl-substituierten Celluloseacetaten und Derivaten davon, Polysacchariden, nicht-erodierbaren Polyurethanen, Polystyrolen, Polyvinylchlorid, Polyvinylfluorid, Poly(vinylimidazol), chlorsulfonierten Polyolefinen, Polyethylenoxid, Copolymeren und Mischungen davon, wobei die Polymermikrosphäre ein Wachstumshormon, das im Polymer in einer Konzentration zwischen 0,1 und 50 Gew.-% dispergiert ist, zusammen mit einem die Löslichkeit des Wachstumshormons modifizierenden Arzneimittelträger, der in einer Konzentration zwischen 0,1 und dreißig Prozent (w/w, Polymer) vorhanden ist und aus der Gruppe ausgewählt ist bestehend aus Salzen, Komplexbildnern, anorganischen Säuren, organischen Säuren, anorganischen Basen, organischen Basen und oberflächenaktiven Stoffen, und einem die Polymer-Erosionsrate modulierenden Arzneimittelträger enthält, worin das Wachstumshormon unter physiologischen Bedingungen über einen Zeitraum von mehr als einem Tag freigesetzt wird.

2. Die Mikrosphären nach Anspruch 1, worin das die Erosionsrate modulierende Mittel ein Poren-bildendes Mittel ist, das zu dem Polymer in partikulärer Form in einer Konzentration zwischen einem und dreißig Prozent (w/w, Polymer) gegeben ist.

3. Die Mikrosphären nach Anspruch 1, die außerdem einen Stabilisator umfassen, der aus der Gruppe ausgewählt ist bestehend aus Kohlenhydraten, Aminosäuren, Proteinen, Lipiden, Salzen, Fettsäuren und oberflächen-aktiven Stoffen.

4. Die Mikrosphären gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, worin die Mikrosphäre einen Durchmesser von weniger als 180 μm (Mikron) besitzt.

5. Eine biokompatible Polymermikrosphäre zur Verwendung bei der Verabreichung von Wachstumshormon, wobei die Polymermikrosphäre zwischen 0,1 und 50% Wachstumshormon enthält, einen Durchmesser von weniger als 180 μm (Mikron) besitzt und aus einem biokompatiblen Polymer gebildet ist, das aus der Gruppe ausgewählt ist bestehend aus Poly(lactid), Poly(lactid-co-glycolid)en, Poly(caprolacton), Polycarbonaten, Polyamiden, Poly-anhydriden, Polyaminosäuren, Polyorthoestern, Poly-acetalen, Polycyanoacrylaten, abbaubaren Polyurethanen,

Polyacrylaten, Ethylenvinylacetat-Polymeren und anderen acyl-substituierten Celluloseacetaten und Derivaten davon, Polysacchariden, nicht-erodierbaren Polyurethanen, Polystyrolen, Polyvinylchlorid, Polyvinylfluorid, Poly(vinylimidazol), chlorsulfonierten Polyolefinen, Polyethylenoxid, Copolymeren und Mischungen davon, wobei die Polymermikrosphäre ein Wachstumshormon, das im Polymer in einer Konzentration zwischen 0,1 und 50 Gew.-% dispergiert ist, und einen Arzneimittelträger enthält, der aus der aus Arzneimittelträgern bestehenden Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Arzneimittelträgern, die die Polymer-Erosionsrate modulieren, Arzneimittelträgern, die die Wirksamkeit des Wachstumshormons stabilisieren und Arzneimittelträgern, die die Löslichkeit des Wachstumshormons modifizieren, worin das Wachstumshormon unter physiologischen Bedingungen über einen Zeitraum von mehr als einem Tag freigesetzt wird.

6. Die biokompatible Polymermikrosphäre gemäß Anspruch 5, worin die Mikrosphäre zur Verwendung bei der Verabreichung von Wachstumshormon durch intramuskuläre, subcutane und intraperitoneale, intradermale Injektion oder durch Applikation auf die Mukosa ist.

7. Die biokompatible Polymermikrosphäre gemäß Anspruch 5 oder Anspruch 6, worin die Mikrosphäre einen Durchmesser von weniger als 70 μm besitzt.

8. Ein Verfahren zur Herstellung einer Vorrichtung zur kontrollierten Langzeit-Verabreichung von Wachstumshormon, wobei das Verfahren umfasst:

- 5 Herstellen von Polymermikrosphären mit einem Durchmesser von weniger als einhundertachtzig Mikron, die aus einem biokompatiblen Polymer gebildet sind, das aus der Gruppe ausgewählt ist bestehend aus Poly(lactid), Poly(lactid-co-glycolid), Poly(caprolacton), Poly-
- 10 carbonaten, Polyamiden, Polyanhydriden, Polyaminosäuren, Polyorthoestern, Polyacetalen, Polycyanoacrylaten, abbaubaren Polyurethanen, Polyacrylaten, Ethylenvinylacetat-Polymeren und anderen acyl-substituierten Celluloseacetaten und Derivaten davon, nicht-erodierbaren
- 15 Polyurethanen, Polystyrolen, Polyvinylchlorid, Polyvinylfluorid, Poly(vinylimidazol), chlorsulfonierten Polyolefinen, Polyethylenoxid und Copolymeren und Mischungen davon, wobei die Polymermikrosphären ein Wachstumshormon in einer Konzentration zwischen 0,1 und 50 Gew.-%
- 20 enthalten, worin die Mikrosphären außerdem einen die Polymer-Erosionsrate modulierenden Arzneimittelträger und einen die Löslichkeit des Wachstumshormons modifizierenden Arzneimittelträger umfassen, durch
- a) Gefrieren von Tröpfchen aus Polymer-
- 25 Wachstumshormon Lösung durch Zerstäuben der Tröpfchen in ein Flüssiggas, das eine Temperatur unterhalb des Gefrierpunktes der Polymer-Lösung besitzt und wirksam.

ist, sofort bei Kontakt die zerstäubte Polymer-Lösung gefrieren zu lassen, wobei besagtes Flüssiggas eine Schicht gefrorenen flüssigen Nicht-Lösemittels für das Polymer überlagert, worin das Polymer-Lösemittel in dem flüssigen Nicht-Lösemittel mischbar ist;

b) Auftauen des Polymer-Lösemittels in den gefrorenen Tröpfchen aus Polymer-Lösung; und

c) Extrahieren des Lösemittels aus den Tröpfchen in ein flüssiges Nicht-Lösemittel, um sphärische Polymermikrosphären zu bilden.

9. Das Verfahren nach Anspruch 8, worin (a) das die Erosionsrate modulierende Mittel ein Poren-bildendes Mittel ist, das zu dem Polymer in partikulärer Form in einer Konzentration zwischen einem und dreißig Prozent (w/w, Polymer) gegeben ist; oder (b) die Mikrosphäre außerdem einen Stabilisator umfasst, der aus der Gruppe ausgewählt ist bestehend aus Kohlenhydraten, Aminosäuren, Proteinen, Lipiden, Salzen, Fettsäuren und oberflächenaktiven Stoffen; oder (c) die Arzneimittelträger, die die Löslichkeit des Wachstumshormons modifizieren, in einer Konzentration zwischen 0,1 und dreißig Prozent (w/w, Polymer) vorhanden sind und aus der Gruppe ausgewählt sind bestehend aus Salzen, Komplexbildnern, anorganischen Säuren, organischen Säuren, anorganischen Basen, organischen Basen und oberflächenaktiven Stoffen.

27.10.00

-6-

10. Die Mikrosphären nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur therapeutischen Verwendung.

11. Verwendung der Mikrosphären nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Herstellung eines Medikaments zur Verwendung in einer Therapie mit Wachstumshormonen.

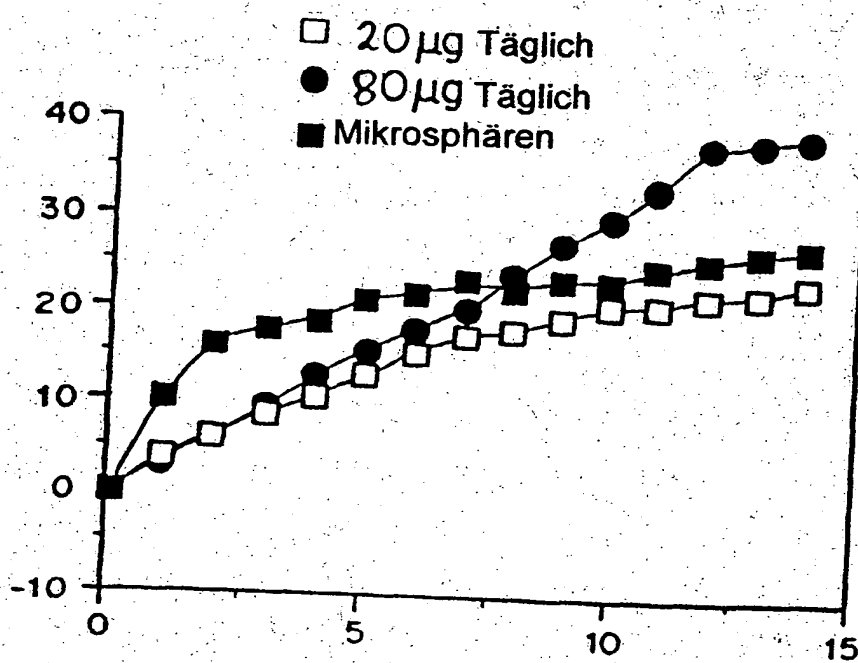
Σ
/G

0674 506

27.10.00

1/1

DURCHSCHNITTICHE GEWICHTSÄNDERUNG (g)



TAG

ABB : 1